

抗微生物剤の眼内許容投与濃度の決定

I. アミノ配糖体系抗生剤

金沢大学医学部眼科学講座 (主任: 河崎一夫教授)

岡 山 欣 彦

(平成4年7月7日受付)

アミノ配糖体系抗生剤のうち、硫酸ネチルマイシン (netilmicin sulfate, NTL), 硫酸アミカシン (amikacin sulfate, AMK) およびトブラマイシン (tobramycin, TOB) の硝子体内許容投与濃度を決定することを目的として、これらの抗生剤がシロウサギ網膜におよぼす影響を、摘出眼杯の網膜電図 (electroretinogram, ERG) の a 波, b 波および律動様小波 (oscillatory potentials, OPs) を指標として検討した。2 個の浸漬液容器間に固定された摘出眼杯 (網膜, 脈絡膜および強膜から成る) からの ERG を記録した。対照浸漬液として長山第Ⅱ液 (NaCl 119.50mM, KCl 3.60mM, CaCl₂ 1.15mM, MgSO₄ 1.06mM, glucose 26.00mM, NaHCO₃ 25.10mM, NaH₂PO₄ 3.00mM) を使用し, その pH を 8.00~8.20 に, その温度を 31±1℃ に維持した。この長山第Ⅱ液灌流中での波形を対照とし, 抗生剤添加液の灌流中での波形を比較検討した。NTL 300μM, AMK 300μM および TOB 100μM では a 波, b 波および OPs は有意には変化しなかった。NTL 500μM, 800μM および 1400μM では b 波および OPs の振幅は低下した。NTL 1400μM では OPs の頂点潜時は延長した。AMK 500μM および 800μM では b 波の振幅は低下し, その頂点潜時は延長し, OPs の振幅は低下した。TOB 300μM および 500μM では b 波および OPs の振幅は低下した。以上の ERG 変化は可逆的であった。低濃度の NTL, AMK および TOB による ERG 変化は b 波および OPs の振幅減少であった。NTL, AMK および TOB のうちでは AMK において網膜毒性が最も低かった。a 波, b 波および OPs に影響をおよぼさない濃度すなわち NTL 300μM (140μg/ml), AMK 300μM (170μg/ml) および TOB 100μM (47μg/ml) は表皮ブドウ球菌, 大腸菌および緑膿菌に対する NTL, AMK および TOB それぞれの最小発育阻止濃度を十分凌駕する。細菌性眼内炎の治療において NTL, AMK および TOB は摘出眼杯 ERG を指標とする限り網膜に無害で硝子体内に投与できる抗生剤である。

Key words netilmicin sulfate, amikacin sulfate, tobramycin, electroretinogram, eye-cup

細菌性眼内炎の多くは急激に進行するので、本症には迅速な治療が必須である。本症の治療においては、全身投与による抗生剤の眼内移行率が低い¹⁾ので、抗生剤の硝子体内注入^{2)~5)}や抗生剤を添加した灌流液を使用した硝子体切除術^{6)~7)}が近年行なわれるようになってきた。しかしこのように硝子体内に抗生剤を投与する治療法において選択すべき抗生剤の種類と至適濃度は未だに確立されていない。

硝子体内に投与する抗生剤の至適濃度を決定する場合には、その網膜におよぼす毒性を考慮しなければならない。しかし抗生剤の硝子体内注入や抗生剤を添加した眼内灌流液による硝子体切除術では実際に網膜と接する抗生剤の濃度は抗生剤の眼内クリアランス、灌流の速度や方向および残存硝子体の多寡などにより一定しない。ゆえに上記の抗生剤投与方法では網膜に作用する抗生剤濃度を精密に規定することが不可能である。濃度を精密に規定して抗生剤を網膜に作用させるには、摘出網膜標本に直接に抗生剤を含有する浸漬液を作用させる摘出眼杯の方法が優れており、この方法において抗生剤が網膜に直接およぼす

影響を調べる目的には摘出眼杯の網膜電図 (electroretinogram, ERG) は有力な手段となる。

Peyman らはシロウサギで ERG の b 波および光学顕微鏡 (光顕) 所見をもとに硝子体内注入したゲンタミシン (gentamicin, GM)⁸⁾, カナマイシン (kanamycin, KM)⁹⁾, トブラマイシン (tobramycin, TOB)¹⁰⁾, アミカシン (amikacin sulfate, AMK)¹¹⁾ およびネチルマイシン (netilmicin sulfate, NTL)¹²⁾ の網膜毒性を報告した。D'Amico ら^{13)~14)} は有色ウサギで硝子体内注入した GM, KM, TOB, AMK および NTL による網膜の変化を電子顕微鏡 (電顕) 所見をもとに検討した。しかし抗生剤の網膜におよぼす影響を調べた研究では摘出眼杯を用いた報告は少なく、著者の調べた限りでは当教室の大野木の報告^{15)~17)}のみである。大野木¹⁷⁾ はシロウサギで摘出眼杯 ERG を指標として KM および GM の網膜におよぼす影響を検討し、ウサギ ERG に対する上記 2 種抗生剤の最小作用濃度を報告した。

視機能の急激な不可逆的な破壊を招く危険が極めて高い細菌性眼内炎の治療に際して抗生剤の種類の選択は重要である。人

Abbreviations: AHB, 4-amino-2-hydroxybutyryl; AMK, amikacin sulfate; CEZ, cefazolin; ERG, electroretinogram; GABA, γ -aminobutyric acid; GM, gentamicin; KM, kanamycin; MIC, minimum inhibitory concentration; NTL, netilmicin sulfate; OPs, oscillatory potentials; PAE, postantibiotic effect; TOB, tobramycin; 光顕, 光学顕微鏡; 電顕, 電子顕微鏡

工水晶体移植術および硝子体切除術を初めとする眼内手術の近年における普及は手術器具の改良, 進歩, 粘弾性物質の使用および眼内灌流液の開発によって目覚ましい。これに伴い, 高齢者や糖尿病患者においても上記の眼内手術が頻繁に行なわれるようになり, このためこれらの手術後の眼内感染の機会も増大することが危惧される。しかも細菌性眼内炎の起因菌として, 黄色ブドウ球菌や表皮ブドウ球菌などのグラム陽性菌が主流を占めるが^{18)~21)}, 緑膿菌を代表とするグラム陰性菌による細菌性眼内炎も増加している^{22)~24)}。このように細菌性眼内炎の起因菌が多様化しているうえに, 耐性菌の出現も重大な問題となっている²⁵⁾。細菌性眼内炎の治療として硝子体切除術を緊急に行なわなければならない際には術前に起因菌を同定できない場合も多い。以上の理由から細菌性眼内炎の治療における抗生剤の選択にあたっては広域スペクトルを有しかつ抗菌力の強い抗生剤が望まれ, これらの抗生剤を硝子体内注入する際に網膜を障害しない許容濃度の決定が必要となってきた。本研究の目的は, 摘出眼杯 ERG の a 波, b 波および律動様小波 (oscillatory potentials, OPs) を指標として抗生剤の網膜に対して無害な許容濃度について検討し, 細菌性眼内炎の治療および予防の目的で使用するべき抗生剤の種類の選択と許容濃度の決定に資することにある。本編では広域スペクトルを有するアミノ配糖体系抗生剤のうちから NTL, AMK および TOB を選び, これらの抗生剤の網膜に対する許容濃度をシロウサギ摘出眼杯 ERG の a 波, b 波および OPs を指標として検討した。

材料および方法

I. 実験動物

体重 2~3 kg のシロウサギ 15 羽 30 眼を使用した。

II. 眼杯作製方法

実験に先立ってウサギに 24 時間以上の暗順応を施行した後に暗赤色光下にて以下の手順によって眼杯を作製した。塩酸ケタミン (ケタラル®[®], 三共, 東京都) 25 mg/kg の筋肉内注射 1 回によって麻酔し, 0.4% 塩酸オキシプロカイン (ペノキシール®[®], 参天製薬, 大阪市) 点眼麻酔後に球結膜全周を角膜輪部に沿って切開し, ついで外眼筋を切断し, 球後約 1 mm の部位で視神経を切断して可及的速やかに眼球を摘出した。摘出した眼球を 100% 酸素ガスを 1.0 l/min の割合で通気した対照浸漬液中 (容積 4 l, 組成は右記) に入れ, 角膜輪部より後極側約 2~3 mm の位置で切半し, 後半の眼杯 (網膜, 脈絡膜および強膜より成る) を実験に使用した。

III. 浸漬液容器および灌流装置

浸漬液容器は 2 個の相対するプラスチック製容器から成り, 各容器の容積はともに 125 ml であった。各容器の相対する面にはウサギの強膜曲率半径にほぼ適合するように半球状のカップが取り付けられており, この中央には直径 10 mm の孔があり, この孔を塞ぐように両容器によって眼杯をはさんだ。容器の相対する面の間隙からの浸漬液の漏洩を防ぐために, この間隙にシリコンラバーの薄板 (厚さ 1.3 mm) をはさみこんだ。灌流液は眼杯の位置から約 50 cm の落差をもって塩化ビニール製のチューブ (内径 3 mm) を通り, ウォーマコイルを経由することによって 31 ± 1 °C に加温された後に, 浸漬液容器の底部より流入し, 各容器内に 100 ml 以上満ちたとき自動的に吸引排除された。抗生剤添加液の灌流開始 15~18 分後に ERG を記録した理由は, ERG の安定化に要する時間および灌流中の抗生剤が

浸漬液容器内ではほぼ一定濃度となるのに要する時間を考慮したからである。浸漬液を各容器に 25 ml/min で灌流し, 各容器の浸漬液には 100% 酸素ガスを 1.0 l/min の割合で通気し, 浸漬液 pH を 8.00~8.20 に維持した。浸漬液の pH 測定には pH メーター Type F-7 (堀場製作所, 京都市) を使用した。

IV. ERG 用光刺激装置および記録方法

刺激光源として安定化電源にて点灯したキセノン・アーク灯 Xenon ARC45 (三双製作所, 東京都) を使用した。光路には中性フィルター, 中性ウエッジ (オプティカル ウエッジ) および集光レンズが組み込まれ, 刺激光強度を調節した。直径 6 mm の硝子繊維束を介し刺激光を眼杯網膜側に照射した。電磁シャッターを硝子繊維束の入光端に設置して, 白色矩形波刺激光を得た。本装置で得られる矩形波刺激光の上昇時間 (シャッターが 90% 開くまでに要する時間) および下降時間 (シャッターが 90% 閉じるまでに要する時間) は, 真空光電管 5653 (RCA, Harrison, 米国) による測定でいずれも 1.8 msec であった。白色弱刺激光 (網膜面照度 2.0×10^{-2} lux, 持続時間 500 msec の矩形波光) による b 波および白色強刺激光 (網膜面照度 3.3×10^2 lux, 持続時間 200 msec の矩形波光) による a 波, b 波および OPs を暗所にて記録した。化学物質による b 波の変化は刺激強度によって異なった様相を呈することがある²⁶⁾ ので, b 波に関しては弱光刺激および強光刺激の両条件下にて検討を加えた。眼杯をはさむ 2 個の浸漬液容器内に固定された一対の銀・塩化銀電極 (臨床心電図用円盤状電極 NS type, 日本光電, 東京都) によって ERG を導出し, 直流増幅器 RDU-5 (日本光電) で増幅した。なお強刺激光による記録の際には同時に OPs を時定数 3 msec の交流増幅器 AB-622M (日本光電) を使用して記録した。ERG 波形の上向きの振れは強膜側に対する硝子体側の陽性を意味する。

a 波振幅としてその頂点から基線までの垂直距離を測り, b 波振幅としてその頂点から a 波の底までの垂直距離を測った。OPs 振幅の計測は米村ら²⁷⁾の計測法に準じた。得られた成績は平均値 ± 標準偏差で示した。対照浸漬液の灌流中, まず a 波, b 波および OPs を記録し, その 15 分後に再び a 波, b 波および OPs を記録した。この両波形での a 波, b 波および OPs それぞれの振幅および頂点潜時の変動率が 5% 以下の場合に対照波形とした。抗生剤添加液の灌流中に記録した a 波, b 波および OPs の対照波形に対する変動率と上記対照波形間の変動率の 2 群の比較に対して対応のある t 検定を用いた。p < 0.01 をもって有意差ありとした。

本編においては, 対照浸漬液として長山第 II 液²⁸⁾を使用した。長山第 II 液は, NaCl 119.50 mM, KCl 3.60 mM, CaCl₂ 1.15 mM, MgSO₄ 1.06 mM, glucose 26.00 mM, NaHCO₃ 25.10 mM および NaH₂PO₄ 3.00 mM から成る。浸透圧計 OSM-1 (島津製作所, 京都市) にて実測した長山第 II 液の浸透圧は 300 ± 3 mOsmol であった。アミノ配糖体系抗生剤として NTL (研究用原末 578 μg 力価/mg, エセックス日本, 大阪市), AMK (研究用原末 727 μg 力価/mg, 萬有製薬, 東京都) および TOB (研究用原末 910 μg 力価/mg, 塩野義製薬, 大阪市) を使用した。室温 (20 ± 5 °C) にて長山第 II 液の pH は 7.42 ± 0.02 であり, NTL (300 μM, 500 μM, 800 μM および 1400 μM), AMK (300 μM, 500 μM および 800 μM) および TOB (100 μM, 300 μM および 500 μM) を添加した際の浸漬液の pH は上記実測値内にとどまった。本実験条件においては,

浸漬液容器内の浸漬液の浸透圧および pH は長山第Ⅱ液ではそれぞれ 300 ± 3 mOsmol および 8.00~8.20 であり, NTL, AMK または TOB を上記各濃度に添加した浸漬液においても上記実測値内にとどまった. 眼杯をまず長山第Ⅱ液中に 15~30 分間保持し, 安定な対照 ERG 波形を記録した. ついで抗生剤を添加した長山第Ⅱ液の灌流開始 15 分後に弱刺激光による ERG を, さらにその 3 分後に強刺激光による ERG を記録した.

成績

I. NTL

12 眼を用いた. いずれにおいても同様の成績を得た. その典型例を以下に示す.

図 1 に NTL $300 \mu\text{M}$ ($140 \mu\text{g/ml}$) 添加浸漬液灌流が ERG におよぼす影響を示す. 図 1 の最上方の波形は抗生剤添加前の対照波形を示す. 二番目の波形は抗生剤添加浸漬液灌流中の波形

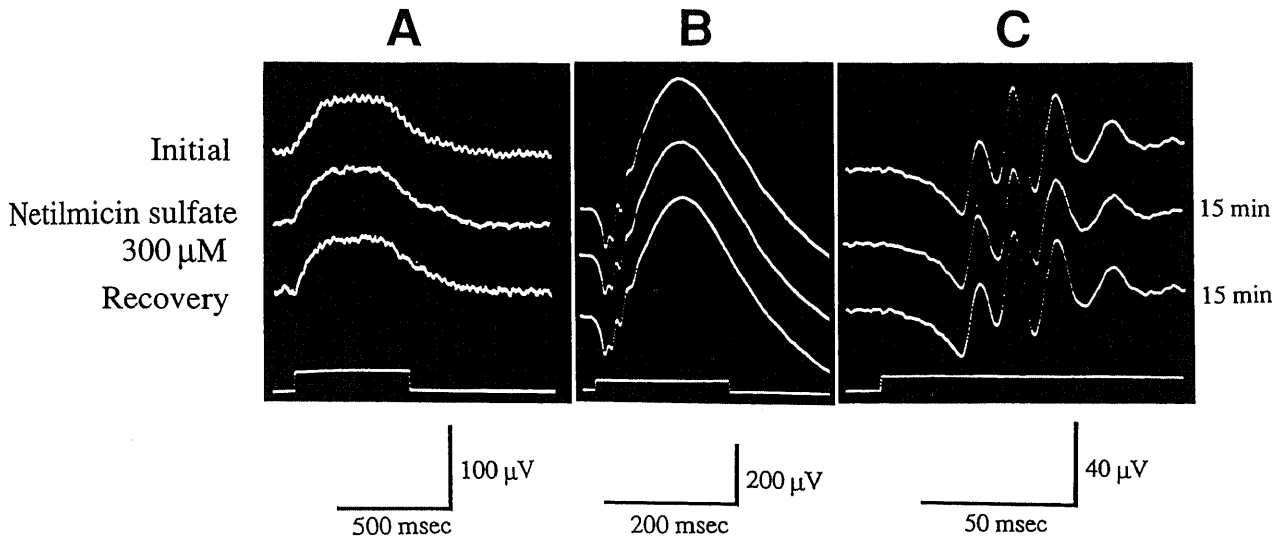


Fig. 1. Effects of $300 \mu\text{M}$ netilmicin sulfate (NTL) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave, the scotopic b-wave, the photopic b-wave and the oscillatory potentials were not deteriorated by $300 \mu\text{M}$ NTL. Responses in A~C were obtained from the same eye-cup. The uppermost traces show responses during initial perfusion with Nagayama's control solution. The next traces show responses during perfusion with an antibiotic-containing solution. The lowest traces show responses after the antibiotic-containing solution was washed out by Nagayama's control solution. Numerals at the right indicate the time (minutes) after onset of perfusion with Nagayama's control solution or the antibiotic-containing solution. These hold in all figures in the present paper. The stimulus intensity was 2.0×10^{-2} lux in A and 3.3×10^2 lux in B and C. Direct-coupled amplification was used in A and B. The amplifier time constant was 3 msec in C.

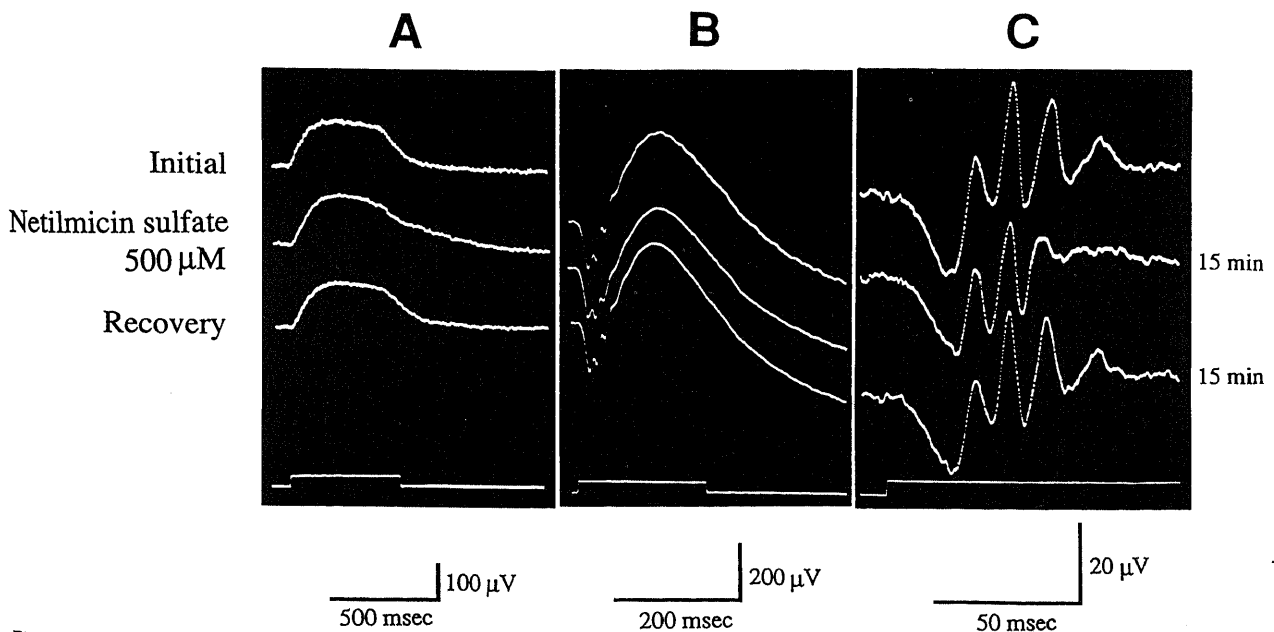


Fig. 2. Effects of $500 \mu\text{M}$ netilmicin sulfate (NTL) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave (B) and the scotopic b-wave (A) were unchanged, while the photopic b-wave (B) and the oscillatory potentials (C) were slightly but statistically significantly suppressed by $500 \mu\text{M}$ NTL. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

を示す。最下方の波形は抗生剤を添加していない浸漬液の灌流に再度戻した15分後の波形を示す。左方の波形は弱刺激光によるb波を示す。中央の波形は強刺激光によるb波を示す。右方の波形は主に OPs の観察を目的として短い時定数 (3msec) で記録した波形を示す。記載の便宜上、OPs の上向きの振れを、頂点潜時の短い順に $O_1 \sim O_4$ と呼ぶことにする。これらは図2~10においても同様である。a波、b波およびOPsの振幅および頂点潜時は NTL 300 μ M によっては有意には変化しな

かった。

図2に NTL 500 μ M (230 μ g/ml) 添加浸漬液灌流によるERG変化を示す。a波は有意には変化しなかった。b波振幅は強刺激光にて軽度低下した ($19 \pm 2.7\%$, $p < 0.01$) が、その頂点潜時は有意には変化しなかった。OPs に関しては、 O_2 と O_3 の振幅は低下した ($25 \pm 4.7\%$, $p < 0.01$) が、それらの頂点潜時は有意には変化しなかった。上記のb波およびOPsの変化は可逆的であった。

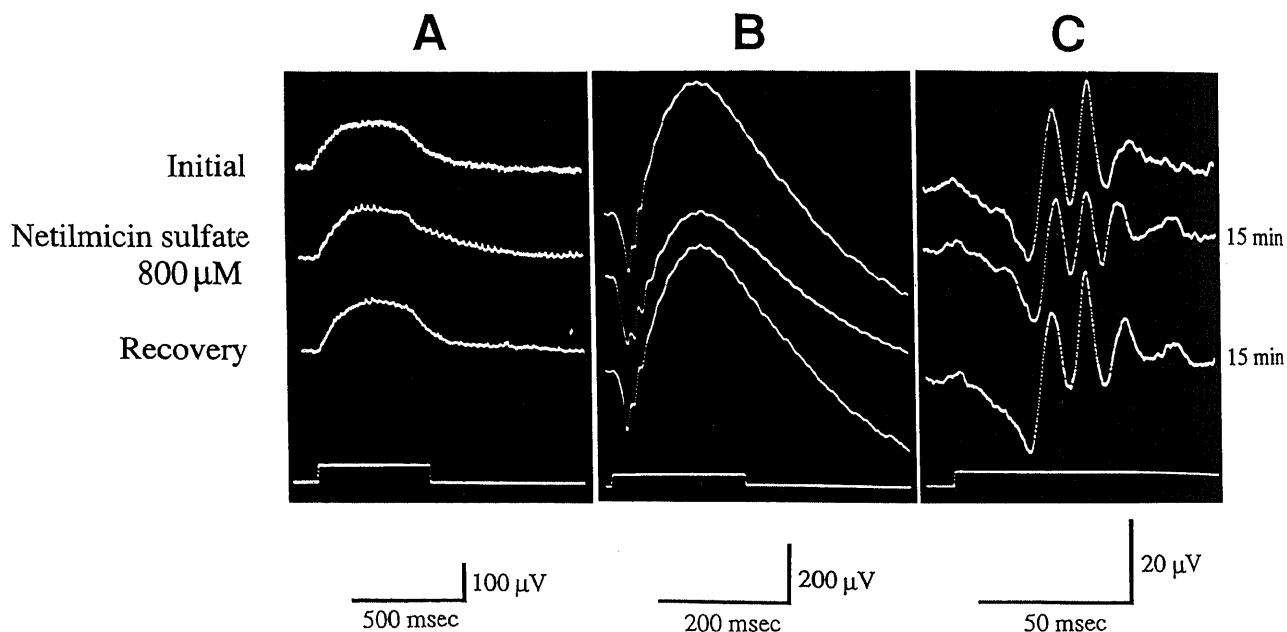


Fig. 3. Effects of 800 μ M netilmicin sulfate (NTL) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave (B) and the scotopic b-wave (A) were unchanged, while the photopic b-wave (B) and the oscillatory potentials (C) were diminished with 800 μ M NTL. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

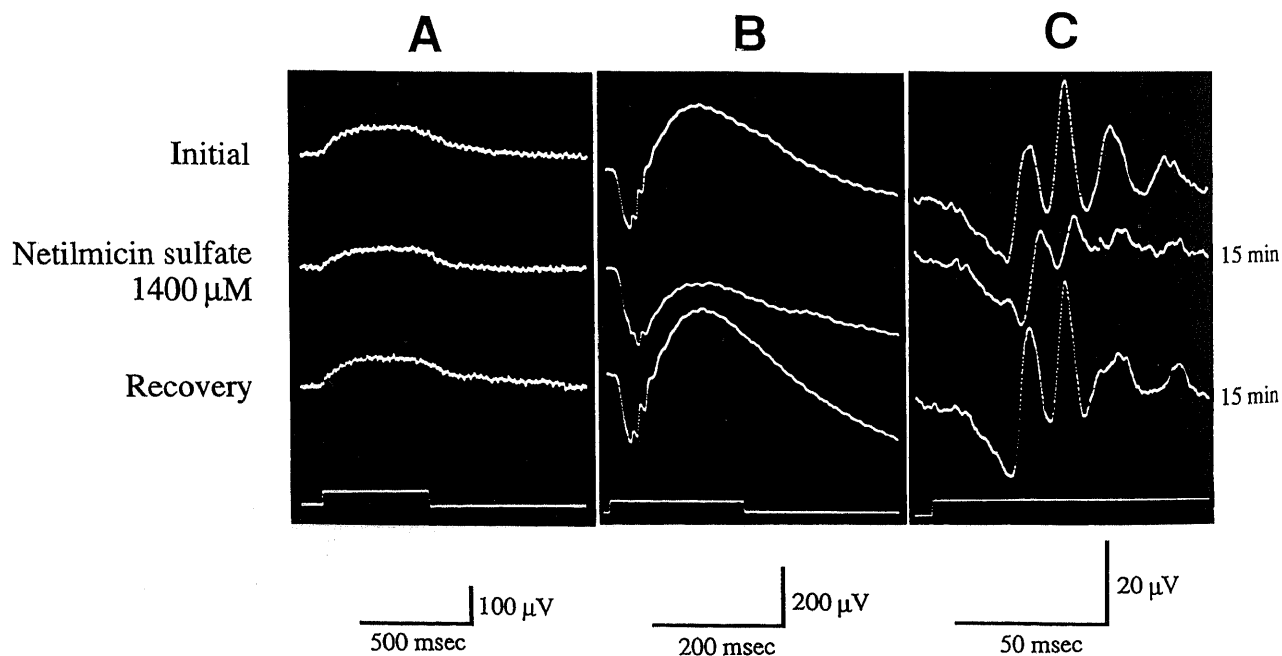


Fig. 4. Effects of 1400 μ M netilmicin sulfate (NTL) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave (B) was unchanged. The photopic b-wave (B) and the oscillatory potentials (C) were reversibly deteriorated by 1400 μ M NTL. The peak latencies of the oscillatory potentials were delayed by 1400 μ M NTL. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

図3に NTL 800 μ M (370 μ g/ml) 添加浸漬液灌流による ERG 変化を示す。a 波は有意には変化しなかった。b 波振幅は強刺激光にて減弱した ($23 \pm 3.4\%$, $p < 0.01$) が, その頂点潜時は有意には変化しなかった。OPs に関しては, O_2 の振幅は低下した ($35 \pm 9.6\%$, $p < 0.01$) が, それらの頂点潜時は有意には変化しなかった。上記の b 波および OPs の変化は可逆的であった。

図4に NTL 1400 μ M (650 μ g/ml) 添加浸漬液灌流による ERG 変化を示す。a 波は有意には変化しなかった。b 波振幅は強刺激光にて著しく低下した ($53 \pm 7.4\%$, $p < 0.01$) が, その頂点潜時は有意には変化しなかった。OPs に関しては, O_1 , O_2 , O_3 および O_4 の振幅は著しく低下し ($69 \pm 9.9\%$, $p < 0.01$), ま

たそれらの頂点潜時は延長した ($11 \pm 1.6\%$, $p < 0.01$)。上記の b 波および OPs の変化は可逆的であった。

II. AMK

9 眼を用いた。いずれにおいてもほぼ同様の成績を得た。その一例を以下に示す。

図5に AMK 300 μ M (170 μ g/ml) 添加浸漬液灌流中の ERG 所見を示す。a 波, b 波および OPs の振幅および頂点潜時は有意には変化しなかった。

図6に AMK 500 μ M (280 μ g/ml) 添加浸漬液灌流による ERG 変化を示す。a 波は有意には変化しなかった。b 波振幅は強刺激光にて低下し ($12 \pm 2.5\%$, $p < 0.01$), その頂点潜時は延長した ($17 \pm 3.1\%$, $p < 0.01$)。OPs に関しては, O_2 と O_3 の振

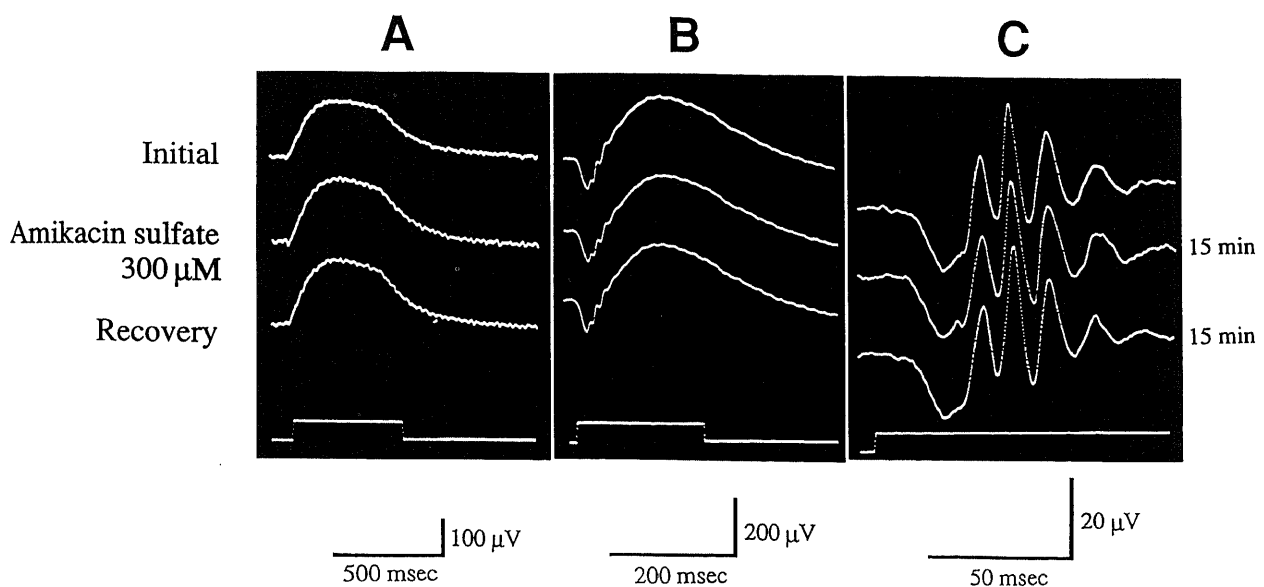


Fig. 5. Effects of 300 μ M amikacin sulfate (AMK) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave, the scotopic b-wave, the photopic b-wave and the oscillatory potentials were not deteriorated by 300 μ M AMK. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

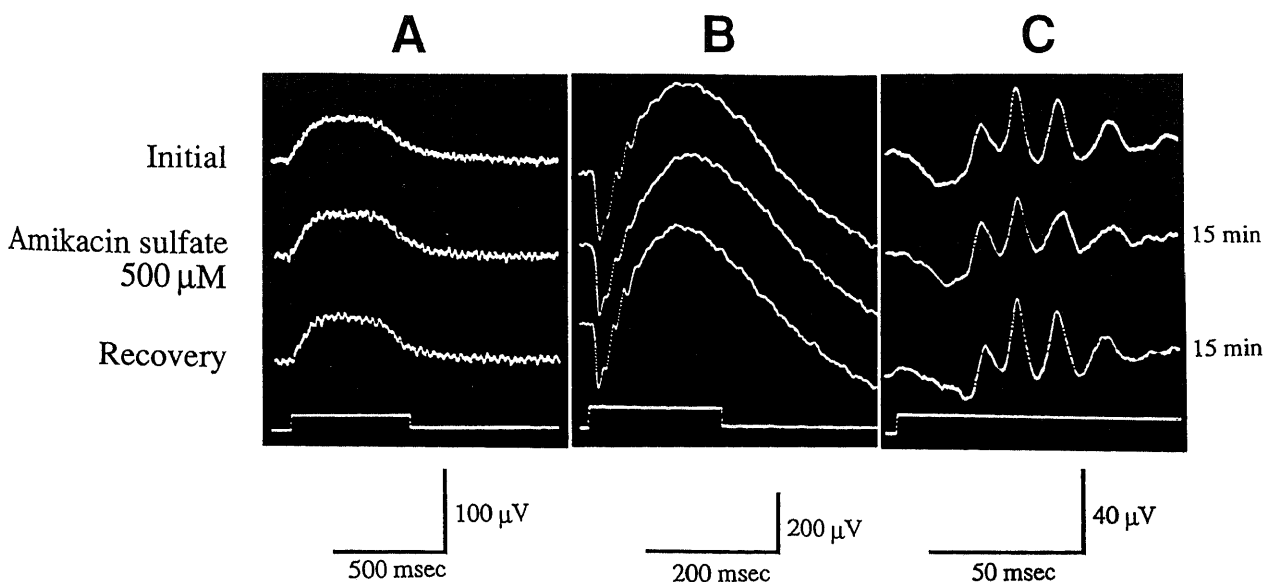


Fig. 6. Effects of 500 μ M amikacin sulfate (AMK) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave (B) and the scotopic b-wave (A) were unchanged. The oscillatory potentials (C) were suppressed by 500 μ M AMK. The peak latency of the photopic b-wave was delayed by 500 μ M AMK. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

幅は低下した ($31 \pm 7.9\%$, $p < 0.01$) が、それらの頂点潜時は有意には変化しなかった。上記のb波およびOPsの変化は可逆的であった。

図7に AMK $800 \mu\text{M}$ ($450 \mu\text{g/ml}$) 添加浸漬液灌流によるERG変化を示す。a波は有意には変化しなかった。b波振幅は強刺激光にて低下し ($15 \pm 3.2\%$, $p < 0.01$)、その頂点潜時は延長した ($26 \pm 3.4\%$, $p < 0.01$)。OPsに関しては、 O_2 と O_3 の振幅は低下した ($32 \pm 7.6\%$, $p < 0.01$) が、それらの頂点潜時は有意には変化しなかった。上記のb波およびOPsの変化は可逆的であった。

III. TOB

9眼を用いた。いずれにおいてもほぼ同様の成績を得た。その一例を以下に示す。

図8に TOB $100 \mu\text{M}$ ($47 \mu\text{g/ml}$) 添加浸漬液灌流中のERG所見を示す。a波、b波およびOPsの振幅および頂点潜時は有

意には変化しなかった。

図9に TOB $300 \mu\text{M}$ ($140 \mu\text{g/ml}$) 添加浸漬液灌流によるERG変化を示す。a波は有意には変化しなかった。b波振幅は強刺激光にて軽度低下した ($15 \pm 4.1\%$, $p < 0.01$) が、その頂点潜時は有意には変化しなかった。OPsに関しては、 O_2 , O_3 および O_4 の振幅は低下した ($34 \pm 6.8\%$, $p < 0.01$) が、それらの頂点潜時は有意には変化しなかった。上記のb波およびOPsの変化は可逆的であった。

図10に TOB $500 \mu\text{M}$ ($240 \mu\text{g/ml}$) 添加浸漬液灌流によるERG変化を示す。a波は有意には変化しなかった。b波振幅は強刺激光にて著しく低下した ($32 \pm 5.2\%$, $p < 0.01$) が、その頂点潜時は有意には変化しなかった。OPsに関しては、 O_1 , O_2 , O_3 および O_4 の振幅は著しく低下した ($72 \pm 8.5\%$, $p < 0.01$) が、それらの頂点潜時は有意には変化しなかった。上記のb波およびOPsの変化は可逆的であった。

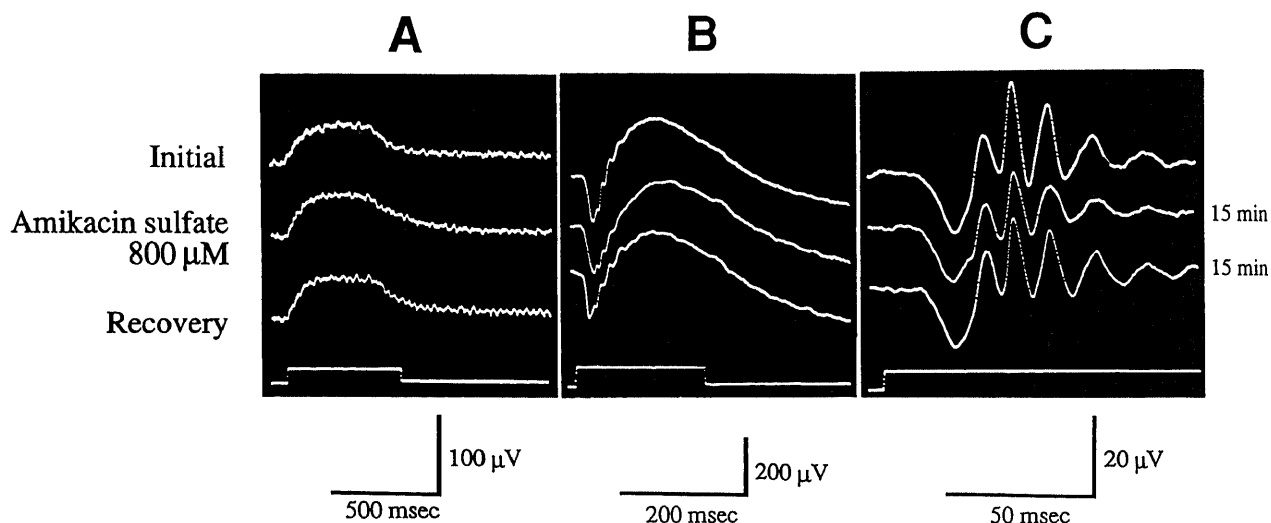


Fig. 7. Effects of $800 \mu\text{M}$ amikacin sulfate (AMK) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave (B), the scotopic b-wave (A) were unchanged. The photopic b-wave (B) and the oscillatory potentials (C) were reversibly suppressed by $800 \mu\text{M}$ AMK. The peak latency of the photopic b-wave was delayed by $800 \mu\text{M}$ AMK. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

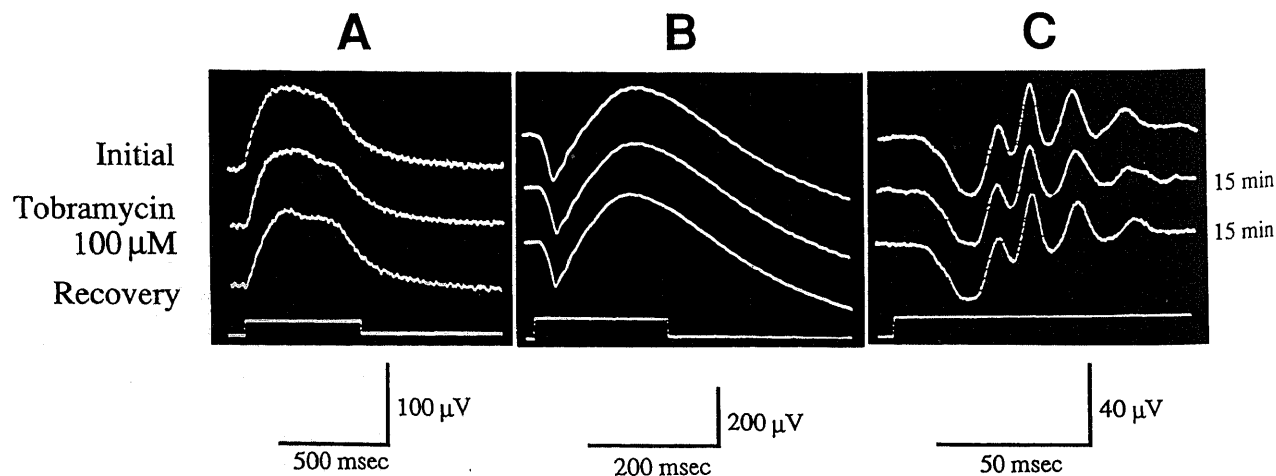


Fig. 8. Effects of $100 \mu\text{M}$ tobramycin (TOB) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave, the scotopic b-wave, the photopic b-wave and the oscillatory potentials were not deteriorated by $100 \mu\text{M}$ TOB. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

考 察

摘出網膜を使用して ERG におよぼす薬物の影響を検討する際には、まず長時間の安定した摘出眼杯 ERG の記録が要求される。Apter²⁹⁾ はネコの摘出眼球を使用して ERG を記録したが、この実験では眼球摘出後に浸漬液に灌流や酸素ガスの通気を施していなかったため短時間の ERG 記録にとどまった。Ames ら³⁰⁾ はウサギの遊離神経網膜を使用して ERG を記録したが、この報告では a 波と b 波の記録にとどまり、OPs は観察されなかった。一方、長山²⁸⁾ は長山第Ⅱ液に浸漬したシロウサ

ギ摘出眼杯(網膜、脈絡膜および強膜より成る)を使用して浸漬液の温度を約31℃に保持し100%酸素ガスを通気のもとに ERG (a 波, b 波および OPs) を記録した。この報告では a 波は660 分間, b 波は300~400分間および OPs は120分間にわたり観察された。しかしこの方法では浸漬液が灌流されていないので, ERG 振幅は安定し難い。すなわち導出された a 波および b 波の振幅は眼球摘出20分後の振幅を100%としたとき60分後にはそれぞれ137%および120%と増大傾向を示した。温血動物で長時間にわたって安定な摘出網膜 ERG (a 波; b 波および OPs) を記録するには、使用すべき浸漬液の pH, 灌流速度, 酸素濃

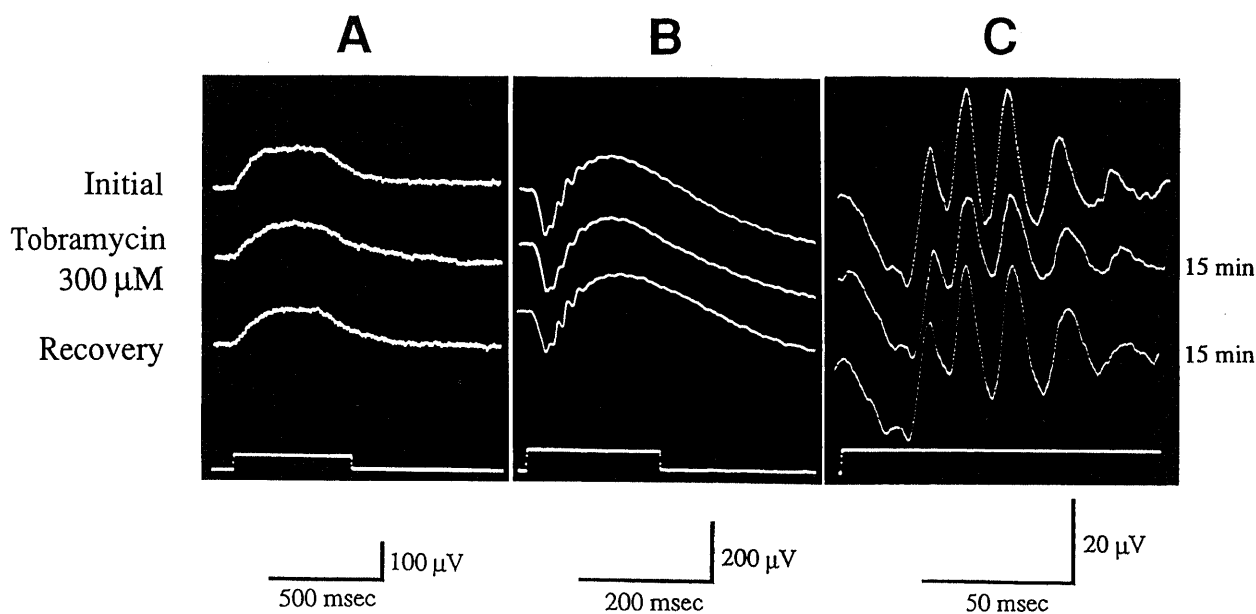


Fig. 9. Effects of 300 μ M tobramycin (TOB) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave (B) and the scotopic b-wave (A) were unchanged. The photopic b-wave (B) and the oscillatory potentials (C) were diminished with 300 μ M TOB. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

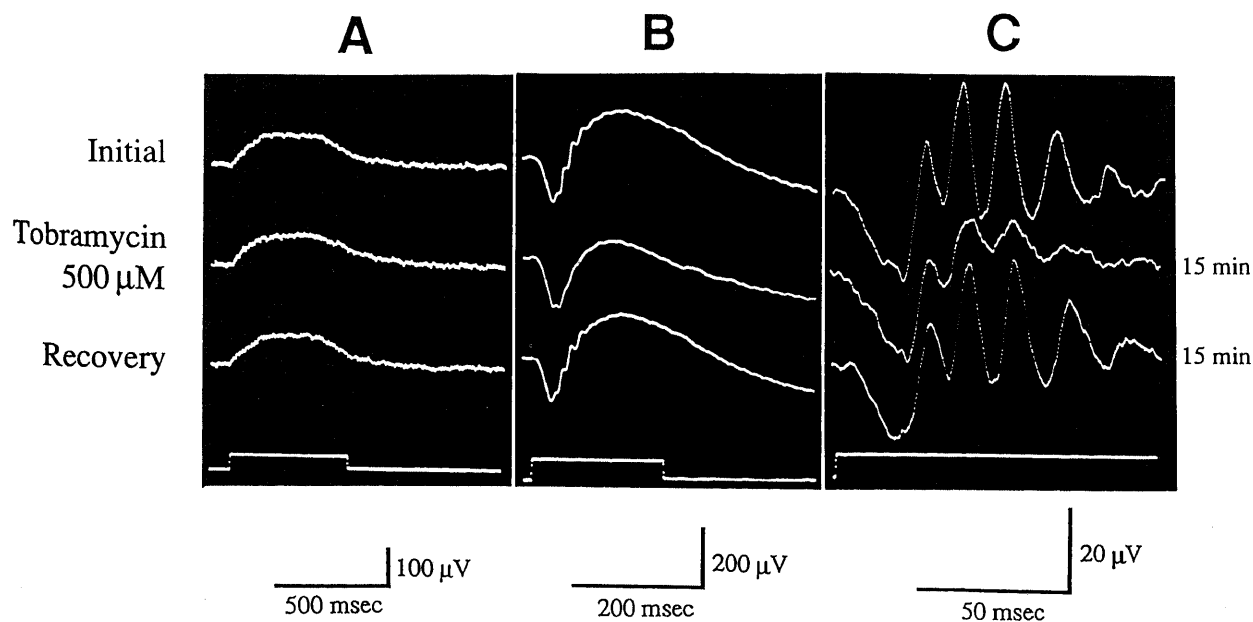


Fig. 10. Effects of 500 μ M tobramycin (TOB) on the ERG of the in-vitro eye-cup of the albino rabbit. The a-wave (B) and the scotopic b-wave (A) were unchanged. The photopic b-wave (B) and the oscillatory potentials (C) were greatly suppressed by 500 μ M TOB. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

度、温度および浸透圧などの諸条件の設定が重要となる。Kato ら³¹⁾はコイ遊離網膜ではERG (b波振幅)を指標として網膜機能を保持するためには浸漬液 pH 8.0が適すると指摘した。Winkler³²⁾はラットの遊離網膜を使用して CO₂ ガス濃度あるいは HCO₃⁻ 濃度を变化させ pH 7.65, 7.40および7.10におけるERG 波形を観察し、b波振幅は pH 7.40にくらべて pH 7.65では増大し、pH 7.10では減少すると報告した。根木ら³³⁾はシロウサギ摘出網膜では浸漬液の pH 7.5~9.0でERG (b波頂点潜時)への影響が少なくと報告した。また川口ら³⁴⁾はシロウサギ摘出網膜では浸漬液の pH 8.0~8.2の状態では安定なERG (a波、b波およびOPs)が記録され、この値より酸性になるとb波振幅が減弱し、この値よりアルカリ性になるとb波振幅が増大しその頂点潜時が延長したと報告した。本編で使した長山第Ⅱ液のpHは100%酸素ガスの通気前では7.42であったが通気により8.00~8.20へと増加した。この値は上記のWinkler³²⁾、根木ら³³⁾および川口ら³⁴⁾が温血動物摘出眼杯ERG観察に適するとしてpHにはほぼ合致する。また川口ら³⁴⁾によると灌流速度50および100ml/minではb波振幅は60分ではほぼ安定したが、灌流速度25ml/minではb波頂点潜時が延長し、一方酸素ガス1.0l/min通気で安定したb波が記録され、酸素ガス0.5l/min通気ではb波振幅が減少し、酸素ガス2.0~4.0l/min通気ではb波振幅が増大しその頂点潜時は延長した。

河野ら³⁵⁾によればシロウサギの硝子体腔の温度は5~50℃の浸漬液の硝子体内灌流によっても120~180秒で速やかに35℃に収束するという。Kato ら³¹⁾はコイ摘出網膜ではb波振幅は20~28℃の間では直線的に温度に比例すると報告した。Honda³⁶⁾はb波振幅を維持するには摘出網膜に対する浸漬液の温度は30~35℃に保つべきであり、低温ではb波の頂点潜時が延長し振幅は著減し、これより高温ではb波振幅は増大しその頂点潜時は延長すると報告した。本編で維持された浸漬液の温度は31±1℃であり、この値は上記の河野ら³⁵⁾、Kato ら³¹⁾およびHonda³⁶⁾が報告した浸漬液の温度に近似している。

中島ら³⁷⁾によればシロウサギ硝子体の浸透圧の実測値は約322±10mOsmolであるが、本田³⁸⁾によれば温血動物の摘出網膜ERGの記録に適する灌流液の浸透圧は310mOsmolである。眼内灌流液として現在推奨されているSMA₂³⁹⁾(オペガード[®]、千寿製薬、大阪市)、Balanced Salt Solution⁴⁰⁾(BSS[®]、Alcon Lab. Inc., Fort Worth, 米国)およびオキシグルタチオン⁴¹⁾(BSS-PLUS[®]、Alcon Lab. Inc.)の浸透圧はそれぞれ実測290mOsmol、303mOsmolおよび301mOsmolである。柴田⁴²⁾はウサギ摘出網膜ERG (a波、b波およびOPs)におよぼす浸透圧の影響を検討した。柴田⁴²⁾によれば浸漬液の浸透圧の約20mOsmolの増加はERGのb波振幅を約10%減弱し、b波は鋭敏な「浸透圧計」であると報告した。本編で使した抗生剤(NTL、AMKおよびTOB)添加浸漬液灌流時の浸漬液容器内pHおよび浸透圧はそれぞれ8.00~8.20および300±3mOsmolであり、対照灌流液である長山第Ⅱ液の実測値(8.00~8.20および300±3mOsmol)の範囲内であった。川口ら³⁴⁾および柴田⁴²⁾の結果を勘案すれば、本編におけるERG変化はpHおよび浸透圧の影響に起因するものではないと解される。

本編では安定したERG記録を得るため、浸漬液として長山第Ⅱ液を使用し、浸漬液のpH、灌流速度および酸素通気は川口ら³⁴⁾の報告に準じた。すなわちpHは8.00~8.20、灌流速度は50ml/minおよび酸素通気は1.0l/minであり、この条件下

で安定なERG (a波、b波およびOPs)を2~4時間にわたって記録できた。

市村ら⁴³⁾は蛍光法を用いて灌流中のGMの網膜側浸漬液容器内での濃度推移を実測したところ、灌流開始15~18分後に浸漬液容器内GM濃度は灌流中の原液における濃度にはほぼ到達すると報告した。本編では灌流系および灌流条件が市村ら⁴³⁾の実験と同一であるので、NTL、AMKおよびTOBも上記のGMと同様な濃度推移を示すであろうと推定される。Amesら³⁰⁾はウサギ遊離神経網膜を用いた実験では細胞外液と浸漬液は大部分1分以内で置換されるといい、Kufflerら⁴⁴⁾はサンショウウオの摘出視神経で細胞外液のNa⁺と浸漬液中のシ₂糖(分子量360)の量の75%が10~20秒で置換されると述べている。Peymanら⁴⁵⁾はシロウサギ硝子体内に注入されたペロキシンダーゼ(分子量4万)が注入15分後で網膜色素上皮細胞間のtight junctionまで到達すると報告した。またTsuboiら⁴⁶⁾はイヌ摘出網膜を使用し、フルオレセイン(分子量372)の硝子体側より強膜側への移動をフルオレセインスペクトロフォトメーターにて測定したところ、15~30分後より急速に強膜側でのフルオレセイン濃度の増加が観察されたと報告した。NTL、AMKおよびTOBの分子量はそれぞれ476、585および467であり、Kufflerら⁴⁴⁾、Peymanら⁴⁵⁾およびTsuboiら⁴⁶⁾の結果を勘案すれば、本編の灌流15~18分後においても浸漬液に添加された3種の抗生剤はそれぞれ網膜全層に到達していたと考えられる。

アミノ配糖体系抗生剤には化学構造からみて特徴がある。アミノ配糖体系抗生剤は分子内に2個以上のアミノ糖と糖に類似の環状構造アミノサイクリトールとを合わせ持っている。このうち臨床に使われているアミノ配糖体系抗生剤の多くはKMとその誘導体およびGMとその誘導体に大別される。本編ではKM系よりAMKおよびTOBを、GM系よりNTLを選出し、これらの抗生剤がシロウサギ摘出眼杯ERG (a波、b波およびOPs)におよぼす影響を検討した。大野木¹⁷⁾はKMおよびGMの網膜におよぼす急性毒性をシロウサギ摘出眼杯ERG (a波、b波およびOPs)を指標として検討した。すなわち、KM 100μM (60μg/ml)ではa波、b波およびOPsは有意に変化しなかったが、KM 400μM (240μg/ml)ではb波振幅は軽度減弱し、OPs振幅は軽度減弱しその頂点潜時は延長した。GM 50μM (23μg/ml)ではb波およびOPsは有意に変化しなかったが、GM 100μM (46μg/ml)ではb波およびOPsは軽度減弱し、GM 400μM (184μg/ml)では特にb波は著明に減弱し、OPsの頂点潜時も延長した。

本編における3種の抗生剤(NTL、AMKおよびTOB)がERGにおよぼす低い濃度での変化は、今回調べた濃度でみる限り、b波およびOPsの振幅減少であり、これは大野木¹⁷⁾が報告したKMおよびGMの結果と共通している。GM系のGMとNTLを比較すると、ERG (a波、b波およびOPs)に変化を来さない最高濃度はGMでは50μM (23μg/ml)、NTLでは300μM (140μg/ml)であり、従ってGMに比べてNTLの網膜毒性の程度がERGでみる限り低いことが判明した。さらにGM系であるGMおよびNTLでは高濃度になるにしたがって濃度依存性にb波およびOPsの振幅が低下し、より高濃度(GM 500μM、NTL 1400μM)ではOPsの頂点潜時が延長する傾向を示した。一方KM系のKM、AMKおよびTOBを比較すると、ERG (a波、b波およびOPs)に変化を来さない最高濃度はKMでは100μM (60μg/ml)、AMKでは

300 μ M (170 μ g/ml) および TOB では 100 μ M (47 μ g/ml) であり, KM および TOB に比べて AMK の網膜毒性の程度が ERG でみる限り低いことがわかった. KM 系である KM, AMK および TOB でも GM 系と同様に高濃度になるにしたがって濃度依存性に b 波および OPs 振幅が低下したが, AMK は高濃度で b 波頂点潜時延長という特徴的な変化を呈した. AMK は KM の誘導体であり, その側鎖に 4-amino-2-hydroxybutyryl (AHB) 基を有する. 柴田²⁶⁾によると抑制性神経伝達物質である γ -aminobutyric acid (GABA) は 0.1mM では ERG は変化せず, 1mM では OPs は消失し, 5~20mM では b 波振幅は低下し, その頂点潜時は延長した. しかし GABA とよく似た構造式 AHB を側鎖に持つ AMK では 0.5mM で b 波頂点潜時が延長した. 本編および大野木¹⁷⁾の報告を検討すると, アミノ配糖体系抗生剤による摘出眼杯 ERG 変化は b 波および OPs の振幅減少が主体をなしていたが, 今後 ERG を指標としたアミノ配糖体系抗生剤の研究においては b 波頂点潜時にも着目する必要がある. 本編の結果より, 摘出眼杯 ERG を指標とする限り網膜に対する毒性を回避するためには, NTL, AMK および TOB で, それぞれ 300 μ M (143 μ g/ml), 300 μ M (176 μ g/ml) および 100 μ M (46.7 μ g/ml) を越えるべきではないと考える.

McDonald ら⁴¹⁾は 20mg または 40mg の GM が偶発的に硝子体内に注入された後に網膜出血, 網膜浮腫, 網膜動脈狭細, 網膜静脈出血, 網膜血管閉塞などをまとめ重篤な視力障害を来した臨床 5 例を報告した. Conway ら⁴⁸⁾は細菌性眼内炎に対して硝子体切除術を施行後に GM 0.4mg, セファゾリン (cefazolin, CEZ) 1.0mg およびデキサメサゾン 0.32mg を硝子体内に注入し経過観察中に網膜出血, 網膜浮腫および眼底後極部に網膜血管閉塞を来した臨床 2 例を報告した. さらに Conway ら⁴⁹⁾はサルにおいて網膜に対する GM 硝子体内注入の影響を調べ, 蛍光眼底所見では GM 1mg あるいは 3mg の硝子体内注入 3 日後に眼底後極部血管からの蛍光漏出および血管閉塞を来し, 光顕所見では GM 1mg は硝子体内注入 7 日後では網膜血管障害を来さないが, 網膜神経細胞層および網膜神経線維層の腫脹を伴う網膜内層障害を来し, GM 3mg は硝子体内注入 21 日後に網膜神経線維層の肥厚および視細胞外節の萎縮を来したと報告した. Brown ら⁵⁰⁾も GM 10mg のサル硝子体内注入が広汎な網膜壊死および網膜血管閉塞を来し, 注入 260 分後に ERG の a 波および b 波が消失したと報告した. Balian⁵¹⁾は偶発的に起こった TOB 20mg の硝子体内注入で急激な網膜変性と視神経萎縮を呈した 1 例を報告した. 上記の報告にもとづき, アミノ配糖体系抗生剤である NTL, AMK および TOB の過剰な硝子体内注入は網膜に障害を惹起すると考えられる.

硝子体内注入された NTL, AMK および TOB が網膜におよぼす毒性に関する諸家の報告を検討する. まず, NTL に関して Sloane ら¹²⁾はシロウサギにおいて NTL 250 μ g 硝子体内注入が網膜への毒性を示さず, かつ実験的細菌性眼内炎の治療に有効であったと ERG (b 波) および光顕所見にもとづいて報告した. D'Amico ら¹⁴⁾は電顕所見にもとづき NTL 100 μ g 硝子体内注入は網膜色素上皮細胞におけるライソゾーム蓄積を惹起し, NTL 500 μ g 硝子体内注入は視細胞外節の破壊, マクロファージ遊走, 網膜色素上皮細胞破壊などの網膜障害を来すと報告した. Tabatabay ら⁵²⁾は有色ウサギにおいて NTL 800 μ g の硝子体内注入 6~10 カ月後に眼底にびまん性黄白色斑が

出現し, その箇所の電顕所見では網膜色素上皮細胞のリピッド変性がみられたと述べた. 次に AMK については, Bennett ら⁵³⁾および Nelson ら¹¹⁾は ERG および光顕所見から, シロウサギおよび有色ウサギにおいて AMK 500 μ g 硝子体内注入が網膜に影響を示さず, 注入 2 週間後の ERG (b 波) に変化を来さず, AMK 750 μ g 硝子体内注入は眼底後極部の網膜にびまん性変性を来したと報告した. Talamo ら⁵⁴⁾は表皮ブドウ球菌および黄色ブドウ球菌による細菌性眼内炎 3 例に AMK 400 μ g および CEZ 2.25mg を硝子体内注入し良好な治療成績を得たと報告した. Roussel ら⁵⁵⁾は人工水晶体移植術後に発生した細菌性眼内炎に AMK 400 μ g を硝子体内注入し治療した 1 例を報告した. D'Amico ら¹⁴⁾によると有色ウサギ網膜の電顕所見において AMK 750 μ g 硝子体内注入では網膜色素上皮細胞にライソゾームが蓄積し, AMK 1500 μ g 硝子体内注入では網膜色素上皮細胞の基底膜陥入とアピカル膜突起は消失した (極性消失). Talamo ら⁵⁶⁾は有色ウサギに水晶体囊外摘出術または水晶体切除術および硝子体切除術を施行した二群に GM (100 μ g および 400 μ g) または AMK (400 μ g~4000 μ g) を硝子体内注入し, 注入 7 日目の網膜の電顕所見では両群とも GM 100 μ g, AMK 400 μ g および 750 μ g では変化なく, GM 400 μ g および AMK 1500 μ g は網膜下マクロファージ侵入, 視細胞外節の消失および網膜色素上皮細胞の基底膜陥入の消失を来したと報告した. 彼ら⁵⁶⁾は上記二群における手術術式の違いによる GM および AMK の眼内クリアランスの相違にかかわらず両群とも GM 400 μ g および AMK 1500 μ g で網膜の電顕所見に異常を来したことからアミノ配糖体系抗生剤の影響の程度は網膜に接する抗生剤の接触時間より主に濃度に依存すると述べた. さらに TOB に関して Bennett ら⁵³⁾はシロウサギにおいて TOB 750 μ g 硝子体内注入が ERG (b 波) および光顕所見に変化を来さず, TOB 2mg 硝子体内注入は網膜外層の変性および b 波消失を来したと報告した. さらに Bennett ら¹⁰⁾は緑膿菌をウサギ硝子体に注入して実験的細菌性眼内炎を生じた後に TOB 500 μ g 硝子体内注入により眼内炎が消退したと述べた. D'Amico ら¹⁴⁾は電顕所見から, 有色ウサギにおいて TOB 500 μ g 硝子体内注入は網膜色素上皮細胞のライソゾーム蓄積を来し, TOB 800 μ g 硝子体内注入は視細胞外節の破壊, 網膜色素上皮細胞の変性および壊死などの網膜障害を来したと報告した. シロウサギの硝子体内容積が約 1.7ml であるので, 本編で ERG に変化を来さないことが判明した 3 種の抗生剤の濃度 (NTL 140 μ g/ml, AMK 170 μ g/ml および TOB 47 μ g/ml) はそれぞれ 240 μ g, 290 μ g および 80 μ g 硝子体内注入に相当し, 本編の成績では上記諸家の報告と比較すると, NTL, AMK および TOB ではより低濃度ですでに ERG (b 波および OPs) を変化させることが判明した. 一般に薬物の細胞におよぼす影響は細胞の機能変化としてまず惹起される. しかし薬物濃度あるいはその作用時間が限界を越えない限り, その機能変化は多くの場合可逆的である. 一方薬物濃度が高かったりその作用時間が長い場合では細胞の機能変化は不可逆的となり, 薬物による細胞の形態学的変化を来すこととなる. Peyman ら⁵⁸⁾および Bennett ら^{10,53)}は GM, TOB あるいは AMK の硝子体内注入が網膜の光顕所見に異常を来さない濃度でもすでに ERG (b 波) 変化を来したと述べた. 本編では細胞膜レベルの反応を検出でき, 振幅あるいは潜時の変化を指標として定量的に分析でき, 可逆的な変化を観察でき, 刺激光強度や記録方法の

違いにより得られる ERG 波形から網膜の層別診断をできるなどの特質を有する電気生理学的検査法⁵⁷⁾を使用しており、しかも摘出眼杯を用いたので硝子体内への抗生剤の注入実験と違って眼内クリアランスなどによる抗生剤濃度の変動を来さず、随意の抗生剤濃度を網膜に直接作用させることができることから上記諸家に比べて低濃度で ERG 変化を来したと解される。本編で ERG に変化を来すことが判明した濃度すなわち NTL 230 $\mu\text{g/ml}$, AMK 280 $\mu\text{g/ml}$ および TOB 140 $\mu\text{g/ml}$ はヒトとウサギの種差の違いを考慮しても細菌性眼内炎の治療の目的で硝子体内注入した場合網膜に毒性をおよぼす危険があることを強調したい。

秋吉ら⁵⁸⁾はラットおよびモルモットにおける耳介反射と蝸牛ラセン器の光顕所見にもとづいて聴覚器系に対する障害の強さは $\text{GM} > \text{TOB} > \text{AMK} > \text{NTL}$ の順であると述べた。Luft ら⁵⁹⁾はラットにおいてクレアチニンクリアランスを指標として腎毒性の程度を比較検討し、腎に対する障害の強さは $\text{GM} > \text{AMK} > \text{TOB} > \text{NTL}$ の順であると報告した。一方 D'Amico ら¹⁴⁾は有色ウサギ網膜色素上皮細胞の電顕所見により網膜に対する障害の強さは $\text{GM} > \text{TOB} = \text{NTL} > \text{AMK}$ の順であると述べた。本編および大野木¹⁷⁾の報告よりシロウサギ摘出眼杯 ERG (a 波, b 波および OPs) を指標として判定した網膜毒性の強さは $\text{GM} > \text{TOB} > \text{NTL} > \text{AMK}$ の順になり、上記 4 種のアミノ配糖体系抗生剤のうちでは AMK の網膜毒性が最も低いことが判明した。これは D'Amico ら¹⁴⁾の報告と合致し、秋吉ら⁵⁸⁾および Luft ら⁵⁹⁾の報告と異なりアミノ配糖体系抗生剤の網膜毒性の程度が腎および耳毒性のそれと一致しないといえる。

秦野ら²⁴⁾によると過去20年間の細菌性眼内炎の起因菌の内訳はグラム陽性菌54.8%, グラム陰性菌38.7%であり、グラム陽性菌が優位である。発症原因別に見ると外因性(外傷, 手術など)の場合ではグラム陽性菌が優位であり、内因性(転移など)の場合ではグラム陰性菌が優位であり、内因性眼内炎の頻度は次第に近年増加している。さらに秦野ら²⁴⁾はその起因菌を同定し、従来より報告が多かった黄色ブドウ球菌, 表皮ブドウ球菌および緑膿菌以外に大腸菌および肺炎桿菌が細菌性眼内炎の起因菌として主要な位置を占めていると報告した。

抗生剤を選択する際に重要な指標として最小発育阻止濃度(minimum inhibitory concentration, MIC)や最小殺菌濃度がある。しかし硝子体内では投与された抗生剤の濃度は抗生剤の眼内クリアランスの相違によって一定しない。Eagle⁶⁰⁾は培地で連鎖球菌(C-203)をペニシリンG(0.008, 0.1または0.128 γ/ml)に1, 2ないし4時間接触させた場合にはその後1~3時間にわたり連鎖球菌(C-203)は増殖しないことを報告した。Craig ら⁶¹⁾は上記の現象すなわち抗生剤が細菌に短時間接触した後持続する増殖抑制効果(postantibiotic effect, PAE)時間を各種の抗生剤について表皮ブドウ球菌, 大腸菌および緑膿菌を対象に調べた。PAE 時間に影響を与える因子として抗生剤の濃度および抗生剤と細菌との接触時間がある。一般に、抗生剤の濃度を増加させることにより PAE 時間は延長する。すなわち PAE 時間は抗生剤濃度-時間曲線下面積と関連している。Craig ら⁶¹⁾によれば NTL, AMK および TOB の緑膿菌に対する PAE 時間は MIC の 4~5 倍濃度にて1時間接触した場合にそれぞれ2.3時間, 2.0時間および2.1時間である。 β -ラクタム系抗生剤であるカルペニシリンの緑膿菌に対する PAE 時間が-0.2時間であることを考慮すると、これら3種の

アミノ配糖体系抗生剤は一回の高濃度投与により緑膿菌に対して強力な増殖阻止を呈することがわかる。表皮ブドウ球菌, 大腸菌および緑膿菌に対する MIC は NTL ではそれぞれ0.19, 0.2および3.1 $\mu\text{g/ml}$ であり^{62,63)}, AMK ではそれぞれ0.78, 3.12および1.56であり⁶⁴⁾, TOB ではそれぞれ0.19, 3.13および0.78である⁶⁵⁾。一般に PAE 時間は MIC の 5 から10倍で最も長く、それ以上に濃度を高めても PAE 時間は延長しない。本編で判明した ERG (a 波, b 波および OPs) を変化させない NTL, AMK および TOB の濃度はそれぞれ140, 170および47 $\mu\text{g/ml}$ であり、これらの濃度は上記3種の菌の MIC の10倍を十分凌駕している。

Kane ら⁶⁶⁾によるとシロウサギにおいて GM 50 μg 硝子体内注入3時間および18時間後の硝子体内 GM 濃度はそれぞれ34.1 $\mu\text{g/ml}$ および21.5 $\mu\text{g/ml}$ であったが、黄色ブドウ球菌を感染させた細菌性眼内炎状態では硝子体内 GM 濃度の半減期は10時間に短縮した。Maurice⁶⁷⁾は硝子体内に投与された GM は主に前房, シュレム管などを介する前方ルートより眼外へ排出されると報告した。しかし輪島ら⁶⁸⁾は硝子体切除眼において GM 79 $\mu\text{g}/0.1\text{ml}$ を硝子体内に注入した後に前房内 GM 濃度(Ca)と硝子体内 GM 濃度(Cv)を注入12時間後および24時間後で測定した結果, Ca/Cv が有意に低下したことより血液眼関門の障害が網膜を介した後方ルートによる GM の眼外への排出を促進したと述べた。また輪島ら⁶⁸⁾は GM の硝子体内注入後の硝子体内 GM 濃度の半減期は約30時間であったが、硝子体切除眼では約12時間短縮したと報告した。NTL, AMK および TOB が GM に近似した眼内クリアランスを呈すると仮定すれば、本編で判明した ERG (a 波, b 波および OPs) を変化させない NTL, AMK および TOB の濃度(それぞれ140 $\mu\text{g/ml}$, 170 $\mu\text{g/ml}$ および47 $\mu\text{g/ml}$ 硝子体内注入)は血液眼関門が障害された細菌性眼内炎状態でも表皮ブドウ球菌をはじめとする各起因菌に対しても有効な MIC を維持し、2~5時間の PAE 時間を示すと考えられる。

結 論

NTL, AMK および TOB の網膜に対する許容濃度を調べることを目的として、シロウサギ摘出眼杯を浸す浸漬液に上記の抗生剤を添加して ERG (a 波, b 波および OPs) の変化を検討し、以下の結果を得た。

1. NTL 300 μM (140 $\mu\text{g/ml}$) では b 波および OPs は変化しなかった。NTL 500 μM および 800 μM では b 波および OPs の振幅は低下した。NTL 1400 μM では b 波および OPs の振幅が低下し、OPs の頂点潜時が延長した。上記の変化は可逆的であった。

2. AMK 300 μM (170 $\mu\text{g/ml}$) では b 波および OPs は変化しなかった。AMK 500 μM および 800 μM では b 波および OPs の振幅は低下し、b 波の頂点潜時が延長した。上記の変化は可逆的であった。

3. TOB 100 μM (47 $\mu\text{g/ml}$) では b 波および OPs は変化しなかった。TOB 300 μM および 500 μM では b 波および OPs の振幅は低下した。上記の変化は可逆的であった。

4. NTL, AMK および TOB のうちでは AMK において網膜毒性が最も低かった。

5. 広い抗菌スペクトルと長時間にわたる PAE 時間を示す NTL, AMK および TOB は眼内感染予防や細菌性眼内炎の治

療の目的に硝子体内注入すべき抗生剤であるとみなされる。

謝 辞

稿を終えるに臨み、終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜りました恩師河崎一夫教授に深甚の謝意を捧げます。また本研究に御協力下さいました大野木淳二博士、北野貢市学士に感謝いたします。浸漬液容器の作製に御協力下さいました本学工作係水野清澄技官に感謝いたします。

文 献

- 1) 大石正夫: 抗生剤の眼内移行—理論と実際—. 眼科, 31, 49-55 (1989).
- 2) Forster, R. K., Abbott, R. L. & Gelender, H.: Management of infectious endophthalmitis. *Ophthalmology*, 87, 313-319 (1980).
- 3) Harris, G. S. & Chow, A. W.: Management of infective endophthalmitis by pars plana vitrectomy. *Can. J. Ophthalmol.*, 17, 194-198 (1982).
- 4) Chen, C. J.: Management of infectious endophthalmitis by combined vitrectomy and intraocular injection. *Ann. Ophthalmol.*, 15, 968-979 (1983).
- 5) Verbraeken, H., Geeroms, B. & Karemara, A.: Treatment of endophthalmitis by pars plana vitrectomy. *Ophthalmologica*, 197, 19-25 (1988).
- 6) 根木 昭: 硝子体腔内注入物質. 臨眼, 43, 1967-1972 (1989).
- 7) Campochiaro, P. A. & Conway, B. P.: Aminoglycoside toxicity - A survey of retinal specialists, Implications for ocular use. *Arch. Ophthalmol.*, 109, 946-950 (1991).
- 8) Peyman, G. A., May, D. R., Ericson, E. S. & Apple, D.: Intraocular injection of gentamicin. Toxic effects and clearance. *Arch. Ophthalmol.*, 92, 42-47 (1974).
- 9) Peyman, G. A., Nelsen, P. & Bennett, T. O.: Intraocular injection of kanamycin in experimentally induced endophthalmitis. *Can. J. Ophthalmol.*, 9, 322-327 (1974).
- 10) Bennett, T. O. & Peyman, G. A.: Use of tobramycin in eradicating experimental bacterial endophthalmitis. *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, 191, 93-107 (1974).
- 11) Nelsen, P., Peyman, G. A. & Bennett, T. O.: BB-K8: A new aminoglycoside for intravitreal injection in bacterial endophthalmitis. *Am. J. Ophthalmol.*, 78, 82-89 (1974).
- 12) Sloane, H., Peyman, G. A., Raichand, M. & West, S.: Netilmicin: New aminoglycoside effective against bacterial endophthalmitis. *Can. J. Ophthalmol.*, 16, 22-26 (1981).
- 13) D'Amico, D. J., Libert, J., Kenyon, K. R., Hanninen, L. A. & Caspers-Velu, L.: Retinal toxicity of intravitreal gentamicin, An electron microscopic study. *Invest. Ophthalmol. & Visual Sci.*, 25, 564-572 (1984).
- 14) D'Amico, D. J., Caspers-Velu, L., Libert, J., Shanks, E., Shooyen, M., Hanninen, L. A. & Kenyon, K. R.: Comparative toxicity of intravitreal aminoglycoside antibiotics. *Am. J. Ophthalmol.*, 100, 264-275 (1985).
- 15) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響. I. 家

- 兎眼におけるペニシリン系抗生剤の検討. 十全医会誌, 95, 468-480 (1986).
- 16) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響. II. 家兎眼におけるセファロスポリン系抗生剤の検討. 十全医会誌, 95, 481-490 (1986).
- 17) 大野木淳二: In vitro ERG に対する抗生剤の影響. III. 家兎眼におけるアミノグリコシド系抗生剤の検討. 十全医会誌, 95, 491-504 (1986).
- 18) Puliafito, C. A., Baker, A. S., Haaf, J. & Foster, C. S.: Infectious endophthalmitis, Review of 36 cases. *Ophthalmology*, 89, 921-929 (1982).
- 19) Olson, J. C., Flynn, Jr. H. W., Forster, R. K. & Culbertson, W. W.: Results in the treatment of postoperative endophthalmitis. *Ophthalmology*, 90, 692-699 (1983).
- 20) Bohigian, G. M. & Olk, R. J.: Factors associated with a poor visual result in endophthalmitis. *Am. J. Ophthalmol.*, 101, 332-341 (1986).
- 21) Fox, G. M., Joondeph, B. C., Flynn, Jr. H. W., Pflugfelder, S. C. & Roussel, T. J.: Delayed-onset pseudophakic endophthalmitis. *Am. J. Ophthalmol.*, 111, 163-173 (1991).
- 22) Greenwald, M. J., Wohl, L. G. & Sell, C. H.: Metastatic bacterial endophthalmitis: A contemporary reappraisal. *Surv. Ophthalmol.*, 31, 81-101 (1986).
- 23) Driebe, Jr. W. T., Mandelbaum, S., Forster, R. K., Schwartz, L. K. & Culbertson, W. W.: Pseudophakic endophthalmitis, Diagnosis and management. *Ophthalmology*, 93, 442-448 (1986).
- 24) 秦野 寛, 井上克洋, 的場博子, 栗田正幸: 細菌 (真菌) 性眼内炎の動向, 発症動機と起炎菌. 臨眼, 43, 121-124 (1989).
- 25) Lambert, S. R. & Stern, W. H.: Methicillin-and gentamicin-resistant staphylococcus epidermidis endophthalmitis after intraocular surgery. *Am. J. Ophthalmol.*, 99, 725-726 (1985).
- 26) 柴田二郎: 家兎摘出眼 ERG に対するアミノ酸の影響. 日眼会誌, 81, 431-451 (1977).
- 27) 米村大蔵, 河崎一夫: 臨床網膜電図学, 第1版, 104-123頁, 医学書院, 東京, 1985.
- 28) 長山理三郎: 摘出家兎網膜 ERG の実験的研究. 第1報 摘出家兎網膜からの ERG の誘導. 日眼会誌, 73, 1900-1908 (1969).
- 29) Apter, J. T.: Prolonged survival of the isolated retina induced by drugs. *Arch. Ophthalmol.*, 59, 722-730 (1958).
- 30) Ames, A. III. & Gurian, B. S.: Electrical recordings from isolated mammalian retina mounted as a membrane. *Arch. Ophthalmol.*, 70, 837-841 (1963).
- 31) Kato, S. & Negishi, K.: Effects of variations in the perfusate on the ERG and discharge of ganglion cells in carp retina. *Exp. Eye Res.*, 26, 363-376 (1978).
- 32) Winkler, B. S.: The electroretinogram of the isolated rat retina. *Vision Res.*, 12, 1183-1198 (1972).
- 33) 根木 昭, 本田孔士, 河野真一郎, 三露真理子: 硝子体腔環境変化の網膜におよぼす影響に関する研究. II. 水素イオン

- 濃度変化の家兎摘出眼盃におよぼす影響. 日眼会誌, 83, 2177-2183 (1979).
- 34) 川口博治, 米村大蔵, 河崎一夫, 柴田二郎, 白倉弘子, 田辺譲二, 中川寛忠: 家兎眼 in vitro ERG におよぼす浸漬液 pH の影響. 日眼会誌, 83, 454-462 (1979).
- 35) 河野真一郎, 本田孔士, 根木 昭, 三露真理子: 硝子体腔環境変化の網膜機能に及ぼす影響に関する研究. Ⅲ. 体内眼杯における温度変化について. 日眼会誌, 84, 1-3 (1980).
- 36) Honda, Y.: Influences of environmental temperature on the electrical activity of rabbit retinas in vitro. *Jpn. J. Ophthalmol.*, 14, 138-145 (1970).
- 37) 中島久雄, 水野勝義: 硝子体内アミノ酸注入における網膜変化. 日眼会誌, 87, 903-910 (1983).
- 38) 本田孔士: 硝子体置換, 硝子体外科の基礎としての電気生理学的研究の重要性, 硝子体環境変化の網膜機能に及ぼす影響について. 眼科, 20, 541-550 (1978).
- 39) 本田孔士: 硝子体の諸問題, (Ⅱ). 硝子体外科のバイオロジー. 日眼会誌, 81, 431-451 (1977).
- 40) Merrill, P. L., Fleming, M. A. & Girard, L. J.: The effects of physiologic balanced salt solutions and normal saline on intraocular and extraocular tissues. *Am. J. Ophthalmol.*, 49, 895-898 (1960).
- 41) Benson, W. E., Diamond, J. G. & Tasman, W.: Intraocular irrigating solutions for pars plana vitrectomy. A prospective, randomized, double-blind study. *Arch. Ophthalmol.*, 99, 1013-1015 (1981).
- 42) 柴田二郎: 家兎摘出眼 ERG に対する浸透圧の影響. 日眼会誌, 78, 844-875 (1974).
- 43) 市村藤雄, 出口芳春, 古瀬 裕, 大野木淳二, 米村大蔵, 河崎一夫, 田辺譲二: In-vitro 実験における網膜側チャンパー内での抗生剤の濃度推移. 高速液体クロマトグラフィー法による検討. 眼臨, 80, 131 (1986).
- 44) Kuffler, S. W., Nicholls, J. G. & Orkand, R. K.: Physiological properties of glial cells in the central nervous system of amphibia. *J. Neurophysiol.*, 29, 768-787 (1966).
- 45) Peyman, G. A., Spitznas, M. & Straatsma, B. R.: Peroxidase diffusion in the normal and photocoagulated retina. *Invest. Ophthalmol.*, 10, 181-189 (1971).
- 46) Tsuboi, S., Fujimoto, T., Uchihori, Y., Emi, K., Iizuka, S., Kishida, K. & Manabe, R.: Measurement of retinal permeability to sodium fluorescein in vitro. *Invest. Ophthalmol. & Visual Sci.*, 25, 1146-1150 (1984).
- 47) McDonald, H. R., Schatz, H., Allen, A. W., Chenoweth, R. G., Cohen, H. B., Crawford, J. B., Klein, R., May, D. R. & Snider, J. D. III.: Retinal toxicity secondary to intraocular gentamicin injection. *Ophthalmology*, 93, 871-877 (1986).
- 48) Conway, B. P. & Campochiaro, P. A.: Macular infarction after endophthalmitis treated with vitrectomy and intravitreal gentamicin. *Arch. Ophthalmol.*, 104, 367-371 (1986).
- 49) Conway, B. P., Tabatabay, C. A., Campochiaro, P. A., D'Amico, D. J., Hanninen, L. A. & Kenyon, K. R.: Gentamicin toxicity in the primate retina. *Arch. Ophthalmol.*, 107, 107-112 (1989).
- 50) Brown, G. C., Eagle, R. C., Shakin, E. P., Gruber, M. & Arbizio, V. V.: Retinal toxicity of intravitreal gentamicin. *Arch. Ophthalmol.*, 108, 1740-1744 (1990).
- 51) Balian, J. V.: Accidental intraocular tobramycin injection: A Case report. *Ophthalmic Surg.*, 14, 353-354 (1983).
- 52) Tabatabay, C. A., D'Amico, D. J., Hanninen, L. A. & Kenyon, K. R.: Experimental drusen formation induced by intravitreal aminoglycoside injection. *Arch. Ophthalmol.*, 105, 826-830 (1987).
- 53) Bennett, T. O. & Peyman, G. A.: Toxicity of intravitreal aminoglycosides in primates. *Can. J. Ophthalmol.*, 9, 322-327 (1974).
- 54) Talamo, J. H., D'Amico, D. J. & Kenyon, K. R.: Intravitreal amikacin in the treatment of bacterial endophthalmitis. *Arch. Ophthalmol.*, 104, 1483-1485 (1986).
- 55) Roussel, T. J., Stern, W. H., Goodman, D. F. & Whitcher, J. P.: Postoperative mycobacterial endophthalmitis. *Am. J. Ophthalmol.*, 107, 403-406 (1989).
- 56) Talamo, J. H., D'Amico, D. J., Hanninen, L. A., Kenyon, K. R. & Shanks, E. T.: The influence of aphakia and vitrectomy on experimental retinal toxicity of aminoglycoside antibiotics. *Am. J. Ophthalmol.*, 100, 840-847 (1985).
- 57) 米村大蔵: 電気生理学的手法による網膜層別機能検査とくに網膜色素上皮の薬物誘発応答. 眼紀, 36, 672-681 (1985).
- 58) 秋吉正豊, 矢野三郎, 中田穂出美, 及川浩志, 奈良哲次, 今沢孝喜: ラットおよびモルモットにおける Netilmicin の耳毒性について. *Chemotherapy*, 29, 41-60 (1981).
- 59) Luft, F. C., Bloch, R., Sloan, R. S., Yum, M. N., Costello, R. & Maxwell, D. R.: Comparative nephrotoxicity of aminoglycoside antibiotics in rats. *J. Infect. Dis.*, 138, 541-545 (1978).
- 60) Eaglè, H.: The recovery of bacteria from the toxic effects of penicillin. *J. Clin. Invest.*, 28, 832-836 (1949).
- 61) Craig, W. A. & Godmondsson, S.: The post antibiotic effect. *In* V. Lorian (ed.), *Antibiotics in Laboratory Medicine*, 2nd ed., p515-536, William & Wilkins Press, Baltimore, 1986.
- 62) 三橋 進, 川辺晴英: Netilmicin の抗菌作用について. *Chemotherapy*, 29, 1-10 (1981).
- 63) 五島瑛智子, 小川正俊, 辻 明良, 金子康子, 桑原章吾: 新しいアミノ配糖体抗生剤 Netilmicin の細菌学的検討. *Chemotherapy*, 29, 25-40 (1981).
- 64) 中沢昭三, 大槻雅子, 西野武志, 黒木裕男, 西畠俊和, 渡辺信子: アミノ配糖体抗生物質 Amikacin に関する細菌学的評価. *Chemotherapy*, 23, 2063-2072 (1975).
- 65) 井口博史, 西野武志, 山田泰造, 堀川哲夫, 中沢昭三: 新しいアミノ配糖体抗生物質 Tobramycin に関する細菌学的評価. *Chemotherapy*, 23, 843-858 (1975).
- 66) Kane, A., Barza, M. & Baum, J.: Intravitreal injection of gentamicin in rabbits, Effect of inflammation and pigmentation on half-life and ocular distribution. *Invest. Ophthalmol. & Visual Sci.*, 20, 593-597 (1981).

67) Maurice, D. M.: Injection of drugs into the vitreous body. In I. Leopold & R. Burus (eds.), Symposium on Ocular Therapy, p59-72, Jhon Wiley & Sons Press, New York, 1976.

68) 輪島良平, 米村大蔵, 河崎一夫, 鳥崎真人, 望月清文: ゲンタマイシンの Pharmacokinetics に対する硝子体切除の影響. 眼紀, 37, 513-517 (1986).

Nontoxic Concentration of Intravitreal Antimicrobial Agents. (I) Netilmicin Sulfate, Amikacin Sulfate and Tobramycin Yoshihiko Okayama, Department of Ophthalmology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa 920—J. Jusen Med. Soc., **101**, 685—697 (1992)

Key words netilmicin sulfate, amikacin sulfate, tobramycin, electroretinogram, eye-cup

Abstract

The effects of netilmicin sulfate (NTL), amikacin sulfate (AMK) and tobramycin (TOB) on the rabbit electroretinogram (ERG) were studied to establish the nontoxic concentration for intravitreal use of the antibiotics. The posterior half of the eye-cup, consisting of the retina, choroid and sclera, was mounted between two chambers, and perfused with Nagayama's solution (119.50 mM NaCl, 3.60 mM KCl, 1.15 mM CaCl₂, 1.06 mM MgSO₄, 26.00 mM glucose, 25.10 mM NaHCO₃ and 3.00 mM NaH₂PO₄). The temperature and pH of the perfusate were maintained respectively at 31 ± 1°C and 8.00~8.20. The ERGs were recorded before and 15 min after the perfusate was changed from the control solution to one containing antibiotic. The ERG waves studied here were the a-wave, the b-wave and the oscillatory potentials (OPs). None of the a-wave, the b-wave and the OPs deteriorated with 300 μM NTL, 300 μM AMK or 100 μM TOB. The photopic b-wave and the OPs diminished with 500, 800 and 1400 μM NTL. The peak latencies of the OPs were delayed by 1400 μM NTL. The photopic b-wave and the OPs were diminished and the peak latencies of the photopic b-wave were delayed by 500 and 800 μM AMK. The photopic b-wave and the OPs were suppressed by 300 and 500 μM TOB. The above-described changes of the ERGs were reversible. The ERG changes induced by the low dose of NTL, AMK or TOB were deterioration of both the b-wave and the OPs. Among these three kinds of antibiotics, retinotoxicity was least in AMK. The minimum concentration affecting the ERG (300 μM for NTL, 300 μM for AMK, 100 μM for TOB) was higher than their respective minimum inhibitory concentration against *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Intravitreal use of NTL, AMK and TOB would be recommended for treatment of bacterial endophthalmitis.